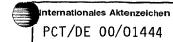
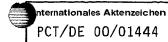
INTERNATION RECHERCHENBERICHT



		PCT/DE 0	0/01444
	ung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN		
Kategorie®	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht komme	enden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	REED JOHN C ET AL: "BCL-2 Family proteins: Regulators of cell death involved in the pathogenesis of cancer and resistance to therapy." JOURNAL OF CELLULAR BIOCHEMISTRY, Bd. 60, Nr. 1, 1996, Seiten 23-32, XP002161051 ISSN: 0730-2312 Seite 23-25 Seite 27-28		1-6,9-16
X	LOWE SCOTT W ET AL: "P53 status and the efficacy of cancer therapy in vivo." SCIENCE (WASHINGTON D C), Bd. 266, Nr. 5186, 1994, Seiten 807-810, XP002161052 ISSN: 0036-8075 das ganze Dokument		1-6,9-16
X	MCCURRACH MILA E ET AL: "Bax-deficiency promotes drug resistance and oncogenic transformation by attenuating p53-dependent apoptosis." PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE UNITED STATES, Bd. 94, Nr. 6, 1997, Seiten 2345-2349, XP002161053 1997 ISSN: 0027-8424 das ganze Dokument		1-6, 10-16
X	FINDLEY HARRY W ET AL: "Expression and regulation of Bcl-2, Bcl-xl, and Bax correlate with p53 status and sensitivity to apoptosis in childhood acute lymphoblastic leukemia." BLOOD, Bd. 89, Nr. 8, 1997, Seiten 2986-2993, XP002161054 ISSN: 0006-4971 Seite 2986 -Seite 2988; Tabelle 1		1-6,9-16
X	KRAJEWSKI STANISLAW ET AL: "Reduced expression of proapoptotic gene BAX is associated with poor response rates to combination chemotherapy and shorter survival in women with metastatic breast adenocarcinoma." CANCER RESEARCH, Bd. 55, Nr. 19, 1995, Seiten 4471-4478, XP002161055 ISSN: 0008-5472 das ganze Dokument		1-6,9-16

INTERNATION RECHERCHENBERICHT



	· · · · · · · · · · · · · · · · · · ·	PCI/DE 0	0/01444
C.(Fortsetz	rung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN		
Kategorie°	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht komme	enden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	WO 98 53103 A (BIBILASHVILLI ROBERT; CHENCHIK ALEX (US); JOKHADZE GEORGE (US); CL) 26. November 1998 (1998-11-26) Seite 14 Seite 52 Seite 77 Seite 103 Seite 131 Seite 149, Zeile 25 -Seite 150, Zeile 2; Tabellen 1,3,6,9		1,11
X	DATABASE BIOSIS 'Online! BIOSCIENCES INFORMATION SERVICE, PHILADELPHIA, PA, US; August 1998 (1998-08) TAI YU-TZU ET AL: "BAX protein expression and clinical outcome in epithelial ovarian cancer." Database accession no. PREV199800406324 XP002161066 Zusammenfassung & JOURNAL OF CLINICAL ONCOLOGY, Bd. 16, Nr. 8, August 1998 (1998-08), Seiten 2583-2590, ISSN: 0732-183X		1-6, 10-16
A	MEIJERINK JULES P P ET AL: "Hematopoietic malignancies demonstrate loss-of-function mutations of BAX." BLOOD, Bd. 91, Nr. 8, 15. April 1998 (1998-04-15), Seiten 2991-2997, XP002161056 ISSN: 0006-4971 das ganze Dokument		1-16

nformation on patent family members

International Application No PCT/DE 00/01444

Patent document cited in search repor	t	Publication date		atent family member(s)	Publication date
WO 9853103	A	26-11-1998	US AU EP US	5994076 A 7593398 A 0988398 A 6077673 A	30-11-1999 11-12-1998 29-03-2000 20-06-2000

WELTORGANISATION FUR GEISTIGES EIGENTUM

Internationales Büro INTERNATIONALE ANMELDUNG VERÖFFENTLICHT NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT)

(51) Internationale Patentklassifikation 7:

C12Q 1/68

A2

(11) Internationale Veröffentlichungsnummer: WO 00/70085

(43) Internationales Veröffentlichungsdatum:

23. November 2000 (23.11.00)

(21) Internationales Aktenzeichen:

PCT/DE00/01444

(22) Internationales Anmeldedatum:

10. Mai 2000 (10.05.00)

(30) Prioritätsdaten:

ş

199 22 052.2

14. Mai 1999 (14.05.99)

DE

(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten ausser US): THER-MOLEKULARMEDIZINISCHE INFORMA-TIONSSYSTEME AG [DE/DE]; Robert-Rössle-Str. 10, D-13125 Berlin (DE).

(72) Erfinder; und

(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): DANIEL, Peter [DE/DE]; Treiberpfad 14, D-13469 Berlin (DE). HILLEBRAND, Timo [DE/DE]; Bansiner Str. 60, D-12619 Dollin (DE). DÖRKEN, Bernd [DE/DE]; Lyckallee 47, D-14055 Berlin (DE). BENDZKO, Peter [DE/DE]; Ifflandstr. 32, D-12623 Berlin (DE).

(74) Anwalt: BAUMBACH, Fritz; Robert-Rössle-Str. 10, D-13125 Berlin (DE).

(81) Bestimmungsstaaten: AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CR, CU, CZ, DK, DM, DZ, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW, ARIPO Patent (GH, GM, KE, LS, MW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Veröffentlicht

Ohne internationalen Recherchenbericht und erneut zu veröffentlichen nach Erhalt des Berichts.

(54) Title: METHOD FOR DETECTING THE EFFECT OF DIFFERENT CHEMOTHERAPEUTIC AGENTS AND/OR RADIATION THERAPY IN MALIGNANT DISEASES AND METHOD FOR SELECTING MORE EFFECTIVE THERAPEUTIC AGENTS FOR THE THERAPY THEREOF

(54) Bezeichnung: VERFAHREN ZUM NACHWEIS DER WIRKUNG VON UNTERSCHIEDLICHEN CHEMOTHERAPEUTIKA UND/ODER EINER STRAHLENTHERAPIE BEI MALIGNEN ERKRANKUNGEN SOWIE VERFAHREN ZUR AUSWAHL WIRKUNGSVOLLER THERAPEUTISCHER MITTEL ZU DEREN THERAPIE

(57) Abstract

The invention relates to a method for detecting the effect of different chemotherapeutic agents and/or radiation therapy in malignant diseases, wherein the expression profile of tumor and/or cell growth and/or apoptosis associated genes and/or individual differences (mutations) in gene sequences are determined. Changes associated with chemotherapeutic agents and/or radiation therapy are identified, represented and diagnostically evaluated. The invention further relates to a method for selecting more effective therapeutic agents for the therapy of malignant diseases. The status of cell cycle genes and/or apoptosis-associated target genes or gene products thereof in body fluids, cells and/or organs is determined and diagnostically evaluated to determine their effect on corresponding therapeutic agents. In a preferred embodiment, Bax and p53 expressions or mutations are investigated and the findings therefrom are used for deciding individual-specific therapy in leukemia and other malignant diseases.

(57) Zusammenfassung

Die Erfindung betrifft ein Verfahren zum Nachweis der Wirkung von unterschiedlichen Chemotherapeutika und/oder einer Strahlentherapie bei malignen Erkrankungen, wobei die Expressionsprofile von Tumor- und/oder Zellwachstum- und/oder Apoptose-assoziierten Geneau-Goder die individuellen Unterschiede (Mutationen) in den Gen-Sequenzen bestimmt werden. Veränderungen im Zusammenig mit Chemotherapeutika und/oder Strahlentherapie werden identifiziert, dargestellt und diagnostisch bewertet. Weiterhin betrifft die Erfindung ein Verfahren zur Auswahl wirkungsvoller therapeutischer Mittel zur Therapie maligner Erkrankungen. Es wird der Status von Zellzyklusgenen und/oder von Apoptose-assoziierten Targetgenen bzw. von deren Genprodukten in Körperflüssigkeiten, Zellen und/oder Organen bestimmt und hinsichtlich ihrer Wirkung auf entsprechende therapeutische Mittel diagnostisch ausgewertet. In einer bevorzugten Ausführungsform werden Bax- und p53-Expression bzw. Mutationen untersucht und daraus abgeleitet Aussagen zur individualspezifischen Therapie-Entscheidung bei Leukämien und anderen malignen Erkrankungen bereitgestellt.

LEDIGLICH ZUR INFORMATION

Codes zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

AL	Albanien	ES	Spanien	LS	Lesotho	SI	Slowenien
AM	Armenien	Fi	Finnland	LT	Litauen	SK	Slowakei
AT	Österreich	FR	Frankreich	LU	Luxemburg	SN	Senegal
AU	Australien	GA	Gabun	LV	Lettland	SZ	Swasiland
AZ	Aserbaidschan	GB	Vereinigtes Königreich	MC	Monaco	TD	Tschad
BA	Bosnien-Herzegowina	GE	Georgien	MD	Republik Moldau	TG	Togo
BB	Barbados	GH	Ghana	MG	Madagaskar	ТJ	Tadschikistan
BE	Belgien	GN	Guinea	MK	Die ehemalige jugoslawische	TM	Turkmenistan
BF	Burkina Faso	GR	Griechenland		Republik Mazedonien	TR	Türkei
BG	Bulgarien	HU	Ungarn	ML	Mali	TT	Trinidad und Tobago
BJ	Benin	IE	Irland	MN	Mongolei	UA	Ukraine
BR	Brasilien	H.	Israel	MR	Mauretanien	UG	Uganda _
BY	Belarus	IS	Island	MW	Malawi	US	Vereinigte Staaten von
CA	Kanada	IT	Italien	MX	Mexiko		Amerika
CF	Zentralafrikanische Republik	JР	Japan	NE	Niger	UZ	Usbekistan
CG	Kongo	KE	Kenia	NL	Niederlande	VN	Vietnam
CH	Schweiz	KG	Kirgisistan	NO	Norwegen	YU	Jugoslawien
CI	Côte d'Ivoire	KP	Demokratische Volksrepublik	NZ	Neusceland	ZW	Zimbabwe
CM	Kamerun		Korea	PL	Polen		
CN	China	KR	Republik Korea	PT	Portugal		
CU	Kuba	KZ	Kasachstan	RO	Rumänien		
CZ	Tschechische Republik	LC	St. Lucia	RU	Russische Föderation		
DE	Deutschland	LI	Liechtenstein	SD	Sudan		
DK	Dänemark	LK	Sri Lanka	SE	Schweden		
EE	Estland	LR	Liberia	SG	Singapur		

WO 00/70085 PCT/DE00/01444

Verfahren zum Nachweis der Wirkung von unterschiedlichen Chemotherapeutika und/oder einer Strahlentherapie bei malignen Erkrankungen sowie Verfahren zur Auswahl wirkungsvoller therapeutischer Mittel zu deren Therapie

Die Erfindung betrifft ein Verfahren zum Nachweis der Wirkung von unterschiedlichen Chemotherapeutika und/oder einer Strahlentherapie bei malignen Erkrankungen, wobei die Expressionsprofile von Tumor- und/oder Zellwachstum- und/oder Apoptose-assoziierten Genen und/oder die individuellen Unterschiede (Mutationen) in den Gen-Sequenzen bestimmt werden. Veränderungen im Zusammenhang mit Chemotherapeutika und/oder Strahlentherapie werden identifiziert, dargestellt und diagnostisch bewertet. Weiterhin betrifft die Erfindung ein Verfahren zur Auswahl wirkungsvoller therapeutischer Mittel zur Therapie maligner Erkrankungen. Es wird der Status von Zellzyklusgenen und/oder von Apoptose-assoziierten Targetgenen bzw. von deren Genprodukten in Körperflüssigkeiten, Zellen und/oder Organen bestimmt und hinsichtlich ihrer Wirkung auf entsprechende therapeutische Mittel diagnostisch ausgewertet. In einer bevorzugten Ausführungsform werden Bax- und p53-Expression bzw. Mutationen untersucht und daraus abgeleitet Aussagen zur individualspezifischen Therapie-Entscheidung bei leukämischen Erkrankungen und anderen tumoralen Erkrankungen bereitgestellt.

ďς

*

14

Der Prozess einer malignen Veränderung einer Zelle beginnt sehr frühzeitig, oft mit nur einer einzigen Veränderung im genetischen Material. Es verläuft über verschiedene Stadien bis hin zur entarteten Zelle und ist selbst zu diesem Stadium noch nicht beendet.

Fortschritte der modernen Molekularbiologie, einhergehend mit einem besseren Verständnis über die Entstehung bösartiger Veränderungen auf molekularer Ebene, erbrachten eine Vielzahl neuer Informationen über im Prozess der Kanzerogenese und Tumorprogression beteiligte Faktoren. Allerdings zeigen diese Ergebnisse auch deutlich, wie vielgestaltig, different und komplex Veränderungen im molekularen Netzwerk sind, um sich letztlich in einem malignen Phänotyp bzw. therapieresistenten Tumor zu präsentieren. Die Beteiligung verschiedener Faktoren im Prozess einer Tumorentwicklung sind einerseits Ausdruck der Kompliziertheit eines solchen Prozesses, können aber auch für eine diagnostische Anwendung sowie prognostische Risikoabschätzung genutzt werden.

Trotz des bis zum heutigen Zeitpunkt erreichten Erkenntnisstandes, erfolgt die Stadieneinteilung und darauf basierend die Behandlung von Tumorpatienten nach wie vor nach histopathologischen bzw. klinischen Kriterien. Diese konventionelle Klassifikation ist somit auch nach wie vor maßgebend für alle Therapieentscheidungen (Hämatologie Onkologie, Hrsg. P.C. Ostendorfund S. Seeber, Urban und Schwarzenberg 1997;

30

Kompendium Internistische Onkologie, Hrsg. H.J. Schmoll, K. Höffken, K. Possinger, Springer 1997).

Eine individualspezifische Therapierung auf der Basis einer möglichst umfassenden molekularen Charakterisierung des Tumors konnte bisher nicht durchgeführt werden.

Der Erfindung hatte deshalb die Aufgabe, Erkenntnisse auf molekuarer Ebene für eine individualspezifische Tumortherapie einzusetzen und für die betroffenen Patienten eine wirkungsvolle Auswahl an therapeutischen vitteln zu finden um eine effektive Behandlung zu ermöglichen.

Tumorentstehung, Tumorprogression und Therapieresistenz werden durch Zellzyklus- und Apoptose-regulierende Faktoren bestimmt. Grundlage der vorliegenden Erfindung war die überraschende Erkenntnis, daß man durch Bestimmung ihres Expressionsprofils diese Tumorbzw. Zellwachstum-assoziierten Gene als prognostische Marker nutzen und das Ansprechen des Patienten auf unterschiedliche Chemotherapeutika, Strahlentherapie sowie klinische Parameter korrelieren kann. Daraus kann in Abhängigkeit vom bestehenden Markerprofil eine effektive und erfolgversprechende Therapieform für den Patienten abgeleitet werden.

Die Erfindung betrifft deshalb ein Verfahren zum Nachweis der Wirkung von unterschiedlichen Chemotherapeutika und/oder einer Strahlentherapie bei malignen Erkrankungen. Erfindungsgemäß werden die Expressionsprofile von Turnor- und/oder Zellwachstum-assoziierten Genen und/oder die individuellen Unterschiede (Mutationen) in den Gen-Sequenzen bestimmt und Wechselwirkungen (Zusammenhänge) mit Chemotherapeutika und/oder Strahlentherapie identifiziert, dargestellt und diagnostisch bewertet.

Es wurde festgestellt, daß die Störung der Apoptose zusammen mit der Deregulation des Zellzyklus ein entscheidender Mechanismus bei Entstehung, Wachstum und der Progression maligner Tumoren ist. Die Rekonstitution der Fähigkeit zum Zellzyklus-Arrest und von apoptosefördernden Genen ist bereits ein wichtiges Ziel experimenteller gentherapeutischer Strategien. Es wurde gefunden, daß eine Hemmung von Apoptose-Signalkaskaden zu Resistenz gegen Zytostatika-und Strahlen-Therapie führen kann, die vor allem bei soliden Tumoren von enormer klinischer Bedeutung ist. Diese Resistenzmechanismen können durch Störungen der Apoptose und des Zellzyklus dadurch entstehen, daß in spezifischen Genen und deren Genprodukten pathologisch relevante Veränderungen enthalten sind. Wichtige Tumorgene, die für Resistenzmechanismen verantwortlich sind, sind z.B. die Gene der bel-2-

100

Familie, vzw. Bax, p53, p16, Caspasen, Rb, Zykline, Inhibitoren von Zyklin-abhängigen Kinasen (CDKi's), ATM und Inhibitoren von Apoptose-Proteinen (IAPs).

Bevorzugt werden gemäß der Erfindung die Expressionsprofile und/oder Mutationen von den genannten Genen mittels Protein- oder DNA/RNA-Analytik bestimmt. Es werden dabei die Expressionsprofile und/oder Mutationen von den jeweiligen einzelnen Genen ausgewertet. Es können aber auch die Profile und/oder Mutationen verschiedener Gene kombiniert werden, wodurch das Erstellen individueller Therapieschema verbessert und eine individuelle Prognose und Risikoabschätzung möglich wird. Vorzugsweise werden die Expressionsprofile von Bax-, p53-, p16-, Caspasen- und/oder Rb- Genen oder ihre Mutationen genutzt und diagnostisch ausgewertet. Besonders bevorzugt wird der Status von p53-Genen und von Bax-Genen bzw. von deren Genprodukten identifiziert.

Gegenstand der Erfindung ist insbesondere ein Verfahren zur Auswahl wirkungsvoller therapeutischer Mittel zur Therapie maligner Erkrankungen. Es ist gekennzeichnet durch Bestimmung des Status von Zellzyklusgenen und/oder von Apoptose-assoziierten Targetgenen bzw. von deren Genprodukten ex vivo in Körperflüssigkeiten, Zellen und Organen, der in Zusammenhang mit der Wirkung entsprechender therapeutischer Mittel diagnostisch ausgewertet wird.

Therapeutische Mittel im Sinne der Erfindung sind an sich bekannte Mittel für die Therapie von leukämischen bzw. Lymphom-Erkrankungen und von anderen malignen Erkrankungen, wie z.B. von Tumoren des Gastrointestinaltraktes, des Pankreas, der Prostata, von gynäkologischen Tumoren (wie z.B. Ovar, Zervix, Mamma), Sarkomen, Hirntumoren, Tumoren der Haut und der Lunge sowie Tumoren endokriner Organe, wie z.B. der Schilddrüse u.a.

Es handelt sich um an sich bekannte Zytostatika, vorzugsweise um Steroidhormone (z. B. Prednison, Prednisolon, Methylprednisolon, und andere Glukocorticoide), Antimetaboliten (Cladribin (2-CDA), Fludarabin, Mercaptopurin, Arabinosid C, 5-substituierte Didesoxynukleoside, wie 5-Fluoruracil, Azidothymidin), um Alkylantien (z.B. Mafosfamid, Chlorambucil, Melphalan, Cyclophosphamid), Taxane (wie Paclitaxel, Docetaxel), Anthrazykline (z.B. Idarubicin, Doxorubicin, Epirubicin, Mitoxanthrone), Topo-Isomerase-Inhibitoren (wie Etoposid), Vinca-Alkaloide, (Vincristin, Vinblastin, Vinorelbin), cis-Platin und andere Platinanaloga u. v. a. m. sowie um Strahlentherapie.

Die Erfindung soll im folgenden am Beispiel von leukämischen Erkankungen weiter erläutert werden. So wurde festgestellt, daß bevorzugt zur Therapie von chronischer lymphatischer Leukämie (CLL), unter Auswertung der Bax-Expression oder Mutationen bei Bax-

Expressionsverlust eine Therapie mit Alkylantien, Anthrazyklinen und Vinca-Alkaloiden weitaus weniger wirksam ist. Eine solche Therapie sollte daher vermieden werden und anderen Therapieformen der Vorzug gegeben werden. Die der Erfindung zu Grunde liegenden Daten beweisen eindeutig, daß bei Patienten mit CLL bei einer niedrigen Bax-Expression ein sehr schlechtes Ansprechen auf eine Zytostatika-Therapie in vitro gegenüber den Alkylantien Mafosfamid, Chlorambucil, Melphalan, gegenüber den Anthrazyklinen Doxorubicin, Epirubicin sowie gegen das Vinca-Alkaloid Vincristin vorliegt. Diese in vitro Sensitivitätsdaten korrelieren mit dem Ansprechen auf Therapie in vivo.

Andererseits konnte gezeigt werden, daß zur Therapie von leukämischen Erkrankungen, vorzugsweise von CLL, bei niedriger Bax-Expression eine in vitro Therapie mit Steroidhormonen oder Fludarabin erfolgversprechend ist. Es gibt nämlich keinen Einfluß auf die Ansprechbarkeit gegenüber Steroidhormonen, z.B. Prednisolon und Methylprednisolon oder gegenüber Fludarabin.

Diese in vitro Daten zur Chemoempfindlichkeit der CLL-Zellen zeigen eine gute Korrelation mit dem klinischen Ansprechen der Patienten auf die Substanzen in vivo.

Sie belegen ferner, daß die diagnostische Abklärung des Bax-Status wesentlich für eine Therapieentscheidung ist. Da der Expressionsverlust von Bax auf unterschiedlichen Stufen der Realisierung der genetischen Information erfolgen kann, müssen für eine solche Diagnostik auch verschiedene Nachweisverfahren einbezogen werden. Dies betrifft z.B. den Nachweis mutativer Veränderungen auf Ebene der DNA (z.B. Punktmutationen: Frameshift Mutationen) und den Nachweis von Hypermethylierungsmustern innerhalb der Baxals mögliche Ursache für transkriptionelles Promoterregion ein Silencing Untersuchungen der Expressionbzw. Expressionshöhe des **Bax-Proteins** (Immunohistochemie oder Western Blot oder Durchflußzytometrie oder andere quantitative Nachweisverfahren) sowie die Analyse transkriptioneller und translationaler Regulatoren und des Proteinabbaus.

Unter Auswertung der p53-Expression oder von Mutationen des p53-Gens hat sich gezeigt, daß zur Therapie von leukämischen Erkrankungen, vorzugsweise von CLL, bei Vorliegen von Mutationen innerhalb der kodierenden Sequenzabschnitte des p53-Gens, eine Therapie mit DNA-schädigenden Substanzen, insbesondere mit Alkylantien, Anthrazyklinen und mit Fludarabin, zu vermeiden ist. Bezüglich einer positiven Korrelation von Mutationen des Tumorsuppressorproteins p53 und einem differentiellen Ansprechen auf Zytostatika konnte nachgewiesen werden, das für Patienten mit Mutationen innerhalb der kodierenden Sequenzabschnitte des p53-Genes ein signifikant schlechteres Ansprechen auf Fludarabin und auf DNA-schädigende Substanzen wie z.B. Alkylantien besteht. Auch für das Kandidatengen p53 muß deshalb eine umfassende diagnostische Analytik auf DNA und Proteinebene

durchgeführt werden. Das gilt prinzipiell auch für die p53-homologen Kandidatengene p73 und p41.

Letztlich kann schon über die kombinierte Diagnostik der beiden Kandidatengene p53 und Bax eine individualisierte Therapieform appliziert werden, indem man durch Kombination des genetischen Status des p53- und Bax-Gens bzw. von deren Genprodukten und/oder Mutationen individuelle Therapieschemata erstellt.

械

£

Weiterhin betrifft die Erfindung die Verwendung der Statusbestimmung von Zellzyklusgenen und/oder von Apoptose-assoziierten Targetgenen bzw. von deren Genprodukten oder Mutationen mittels Protein-oder DNA/RNA-Analytik zur Bestimmung von Therapieresistenz und zur gezielten Auswahl therapeutischer Mittel für zytotoxische Therapien. Bevorzugt erfolgt die Analyse anhand von Bax-Expression oder Mutationen oder anhand von p53-Expression oder Mutationen.

Besonders bevorzugt erfolgt die Verwendung der Statusbestimmung von Bax- und p53-Genen für eine risikoadaptierte Tumortherapie bei leukämischen Erkrankungen, wie der CLL und anderen Tumoren. In einer weiteren Ausführungsform der Erfindung erfolgt die Verwendung in Kombination von p53 und Bax mit weiteren Zellzyklus-und Apoptose-Regulatoren, die auch entweder allein oder in ihrer Kombination als eine molekulare Pathway-(Signalweg-) Diagnostik bei malignen Tumoren oder Präkanzerosen eingesetzt werden können.

Es ist zwar bekannt, daß z.B. auf Grund einer bestehenden klaren Funktionalität des Tumorsuppressorproteins p53 innerhalb der Zellzyklus- und Apoptoseregulation ein Verlust von p53-Funktion häufig in Tumoren z.B. durch Mutation, Deletion oder Promotorveränderungen gefunden wird. Überraschend war jedoch, daß ein funktional geschädigtes p53-Protein dennoch ein selektives Ansprechen auf bestimmte Zytostatika bei Patienten mit einer chronischen lymphatischen Leukämie (CLL) ermöglicht. Das konnte erstmalig nachgewiesen werden. Dies betrifft darüber hinaus auch eine Vielzahl weiterer apoptoseassoziierter Targetgene und besonders deren funktionelle Kombination.

Die vorliegenden Untersuchungen wurden exemplarisch für das Tumorsuppressorprotein p53 und das proapoptotische Gen Bax bei Patienten mit chronischer lymphatischer Leukämie (CLL) durchgeführt. Weitere Daten liegen z. B. auch für diese und andere Apoptose- und Zellzyklus-Regulatoren vor bei Tumoren des Gastrointestinaltrakte, wie z.B. Magenkarzinom, Ösophagus-Karzinom und Sarkomen.

Mit der vorliegenden Erfindung konnte anhand der beiden apoptosebeeinflussenden Proteine p53 und Bax der schlüssige Nachweis dafür erbracht werden 'daß über eine diagnostische Charakterisierung von entsprechenden Tumorgenen auf molekularer Ebene (DNA) und auf Expressionsebene (Protein) die Möglichkeit besteht, Zytostatika selektiv auszuwählen, um somit eine verbesserte Behandlung zu erreichen. Die Erkenntnisse zur molekularen Pathogenese und Therapieresistenz von Tumoren können erfindungsgemäß als Grundlage für eine individualspezifische Tumortherapie eingesetzt werden und auf diesem Wege eine gezieltere und letztlich für den betroffenen Patienten auch maximal erfolgreiche Behandlung erwirken.

Somit kann man Patienten, die nach molekularen Maßstäben eine per se gute Prognose haben, auf zytotoxische Therapien anzusprechen und ein bessees Überleben nach Therapie zeigen, aufwendige und kostenintensive Therapien ersparen. Gleichzeitig können bei Patienten mit schlechtem Risikoprofil aggressivere Behandlungen durchgeführt werden, um den Therapieeffekt zu verbessern. Weiterhin können bei nachgewiesener Resistenz durch eine weniger aggressive Behandlung unnötige Belastungen für den Patienten und Kosten vermieden werden.

Durch die Erfindung ist es möglich, veränderte zelluläre Tumormarker als Entscheidungskriterium für die Auswahl verschiedener Standard-Chemotherapeutika einzusetzen, d.h. auch positive Korrelationen zwischen veränderten Tumormarkern und der Wirksamkeit bzw. auch Unwirksamkeit von Chemotherapeutika auszunutzen. Dies bietet die Möglichkeit, erstmalig nach einer Charakterisierung von ausgewählten zellulären Tumormarkern selektiv die Form des einzusetzenden Chemotherapeutikums bzw. auch einer Strahlentherapie oder deren Kombination auszuwählen.

Aus der folgenden Tabelle 1 kann aufgrund vergleichender Untersuchungen der Expression von Bax-Protein, das als proapoptotisch bei CLL bekannt ist, und dem Bcl-2-Protein, welches an sich die Aufgabe hat, den Zelltod zu blockieren, die Wirkung verschiedener Zytostatika bei einer CLL-Behandlung entnommen werden. So ist eindeutig ersichtlich, daß das Ansprechen auf Anthrazykline und Alkylantien (Doxorubicin, Epirubicin, Chlorambucil und Mafosfamid) sowie Vincristin eine gute Korrelation zum Bax-Expressionsniveau (Western-Blot) zeigt (p-Wert signifikant und < 0,05). Keine Korrelation wurde hingegen bei Bestimmung der Bcl-2-Expression gefunden. Hingegen zeigt die Wirkung von Steroidhormonen (Methylprednisolon, Prednisolon) bzw. von Fludarabin-Gabe keine Korrelation zum Niveau der Bax-Expression, woraus auf eine erhöhte zytotoxische Wirkung der eingesetzten Mittel auch bei Bax-negativen Tumorzellen geschlossen werden kann.

Bestätigt werden diese Aussagen durch die in Abbildung 1 dargestellte Korrelation von Bax und der ex-vivo Antwort von CLL-Patienten auf ein Panel von Zytostatika. Angegeben sind jeweils die relativen Spiegel der Bax-Proteinexpression (densitometrische Werte von Western-Blot-Analysen) und die LC90-Dosis für das jeweilige Zytostatikum.

In Abbildung 2 ist die Korrelation zwischen Bax-Expression mit der LC90 Dosis von Doxorubicin bei 37 CLL-Patienten beschrieben.

Abbildung 3 zeigt die verminderte Zytostatika-Sensivität von CLL-Zellen in vitro gegen die Alkylantien Chlorambucil und Melphalan ... wie gegen Fludarabin bei p53-mutierten CLL-Patienten im Vergleich zum p53 Wildtyp. Die p53-Mutationen wurden mittels SSCP-PCR für die Exons 5 bis 8 bestimmt. Die Balkenhöhe entspricht der Dosis des Zytostatikums in µg/ml.

Tabelle1:

ď,

Beziehung zwischen dem Niveau der Proteinexpression von Bax, Bcl-2 und dem Verhältnis der Bax und Bcl-2 Expression (Bcl-2/Bax) und der ex-vivo Zytotoxizität von Zytostatika bei der Behandlung der CLL.

Signifikanz-Niveau des Korrelationskoeffizienten nach Pearson (p-Wert)					
Zytos:tikum	Bax	Bel-2	Bcl-2/Bax		
Fludarabin-Phosphat	0.816	0.212	0.829		
Cladribine (2-CDA)	0.524	0.351	0.658		
Chlorambucil	0.034	0.739	0.157		
Mafosfamide	0.017	0.250	0.160		
Methylprednisolone	0.836	0.415	0.880		
Prednisolone	0.807	0.545	0.898		
Vincristine	0.011	0.052	0.127		
Doxorubicin	0.001	0.920	0.001		
Epirubicin	0.002	0.647	0.001		

P-Werte kleiner als 0.05 sind statistisch signifikant

Legenden zu den Abbildungen:

Abbildung 1:

Assoziation der Spiegel von Bax und der ex-vivo Antwort von CLL-Patienten auf ein Panel von Zytostatika. Angegeben sind jeweils die relativen Spiegel der Bax-Proteinexpression (Densitometrische Werte von Western-Blot-Analysen) und die LC90-Dosis für das jeweilige Zytostatikum.

Abbildung 2:

Assoziation zwischen Bax-Expression mit der LC90 Dosis von Doxorubicin bei 37 CLL-Patienten. Dieser Bezug in Hinblick auf die zytotoxische Wirkung des Zytostatikums konnte nur bei Bax, nicht jedoch bei Bcl-2 bzw. dem Quotienten aus Bcl-2 zu Bax beobachtet werden.

Abbildung 3:

Verminderte Zytostatika-Sensivität (Balkenhöhe entspricht Dosis in μg/ml Zytostatikum) bei p53-mutierten CLL-Patienten im Vergleich zum p53 Wildtyp. Die p53-Mutationen wurden mittels SSCP-PCR für die Exons 5 bis 8 bestimmt.

Patentansprüche:

- 1. Verfahren zum Nachweis der Wirkung von unterschiedlichen Chemotherapeutika und/oder einer Strahlentherapie bei malignen Erkrankungen, dadurch gekennzeichnet, daß die Expressionsprofile von Apoptose- und/oder Zellwachstum-regulierenden Genen und/oder die individuellen Unterschiede (Mutationen) in den Gen-Sequenzen bestimmt und Veränderungen im Zusammenhang mit Chemotherapeutika und/oder Strahlentherapie identifiziert, dargestellt und diagnostisch bewertet werden.
- 2. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß die Expressionsprofile der Gene der bcl-2-Familie, vzw. Bax, p53, p16, Caspasen, Rb, Zyklinen, Inhibitoren von Zyklin-abhängigen Kinasen (CDKi's), ATM und Inhibitoren von Apoptose-Proteinen (IAPs) und/oder Mutationen in den Genen mittels Protein- oder DNA/RNA-Analytik bestimmt werden und einzeln oder in verschiedenen Kombinationen bewertet werden.
- 3. Verfahren nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, daß individuelle Unterschiede in der Sequenz von Apoptose und/oder Zellwachstum-regulierenden Genen und/oder der Expression ihrer Genprodukte, die bei malignen Erkrankungen vorkommen, in Bezug zu einer individuell unterschiedlichen Ansprechbarkeit auf Arzneimittel gesetzt und bewertet werden, insbesondere im Hinblick auf ihre Relevanz für Therapie-Ansprechen.
- 4. Verfahren zur Auswahl wirkungsvoller therapeutischer Mittel zur Therapie maligner Erkrankungen, dadurch gekennzeichnet, daß der Status von Zellzyklusgenen und/oder von Apoptose-assoziierten Targetgenen bzw. von deren Genprodukten in Körperflüssigkeiten, Zellen und/oder Organen ex vivo bestimmt und die für diesen Status wirkungsvollen therapeutischen Mittel ausgewählt werden.
- 5. Verfahren nach Anspruch 4, dadurch gekennzeichnet, daß Mittel für die Therapie von leukämischen Erkrankungen und anderen hämatologischen Malignomen und soliden Tumoren, wie z.B. Tumoren des Gastrointestinaltraktes, des Pankreas, der Prostata, von gynäkologischen Tumoren, Sarkomen, Hirntumoren, Tumoren der Haut und der Lunge sowie Tumoren endokriner Organe bewertet werden.
- 6. Verfahren nach Anspruch 4 oder 5, dadurch gekennzeichnet, daß therapeutische Mittel an sich bekannte Zytostatika, vorzugsweise Steroidhormone, Alkylantien, Anthrazykline, Antimetabolite, Taxane, Topo-Isomerase-Inhibitoren, Vinca-Alkaloide, cis-Platin und andere Platin-Derivate u. v. a. m. sind.

- 7. Verfahren nach Anspruch 1 bis 6, dadurch gekennzeichnet, daß zur Therapie von soliden Tumoren bzw. leukämischen und anderen hämatologischen, malignen Erkrankungen, vorzugsweise von chronischer lymphatischer Leukämie, die Bax-Expression oder Mutationen ausgewertet werden und bei niedriger Bax-Expression eine Therapie mit Alkylantien, Anthrazyklinen und Vinca-Alkaloiden vermieden und eine andere Therapieform gewählt wird.
- 8. Verfahren nach Anspruch 1 bis 6, dadurch gekennzeichnet, daß zur Therapie von leukämischen Erkrankungen, vorzugsweise von chronischer lymphatischer Leukämie, die Bax-Expression oder Mutationen ausgewertet wird und bei niedriger Bax-Expression eine Therapie mit Steroidhormonen oder Fludarabin-phosphat/2-CDA erfolgt.
- 9. Verfahren nach Anspruch 1 bis 6, dadurch gekennzeichnet, daß zur Therapie von leukämischen Erkrankungen, vorzugsweise von chronischer lymphatischer Leukämie, die p53-Expression oder Mutationen ausgewertet werden und bei Vorliegen von Mutationen innerhalb der kodierenden Sequenzabschnitte des p53-Genes eine Therapie mit DNAschädigenden Substanzen, insbesondere mit Alkylantien, Anthrazyklinen und Fludarabin, vermieden vermieden und eine andere Therapieform gewählt wird.
- 10. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 9, dadurch gekennzeichnet, daß durch Kombination der Bestimmung des Status verschiedener Apoptose- und/oder Zellwachstum-assoziierten Gene, vorzugsweise von p53 und Bax bzw. von deren Genprodukten und/oder Mutationen und/oder deren Homologen individuelle Therapieschemata erstellt werden.
- 11. Verwendung der Statusbestimmung mittels Protein-oder DNA/RNA-Analytik von Apoptose- und/oder Zellwachstum-assoziierten Genen bzw. von deren Genprodukten zur Ermittlung von Resistenzen gegen Strahlentherapie und gegenüber therapeutischen Mitteln sowie zur gezielten Auswahl therapeutischer Mittel für zytotoxische Therapien.
- 12. Verwendung nach Anspruch 11, dadurch gekennzeichnet, daß der Status, nämlich Expressionsprofil und/oder Mutationen, von Genen der bcl-2-Familie, vzw. Bax, p53, p16, Caspasen, Rb. Zykline, Inhibitoren Zyklin-abhängiger Kinasen (CDKi's), ATM und Inhibitoren von Apoptose-Proteinen (IAPs) einzelner Gene oder in verschiedenen Kombinationen bestimmt wird.
- 13. Verwendung nach Anspruch 12, dadurch gekennzeichnet, daß der Status von Bax-Expression oder Mutationen des Bax-Gens bzw. Bax-Promotors und Bax-Regulatoren verwendet wird.

- 14. Verwendung nach Anspruch 12, dadurch gekennzeichnet, daß der Status von p53-Expression oder Mutationen des p53-Gens verwendet wird.
- 15. Verwendung nach Anspruch 11 bis 14, dadurch gekennzeichnet, daß Status von Bax und p53 für risikoadaptierte Tumortherapien bei maligne hämatologische Erkrankungen, wie der CLL, und anderen tumoralen Erkrankungen verwendet wird.
- 16. Verwendung nach Anspruch 11 bis 15 einer Kombination von p53 und Bax sowie ggf. weiterer Zellzyklus-und Apoptose-Regulatoren entweder allein oder in ihrer Kombination im Sinne einer molekularen Pathway-Diagnostik bei malignen Tumoren oder Präkanzerosen.

- ASS

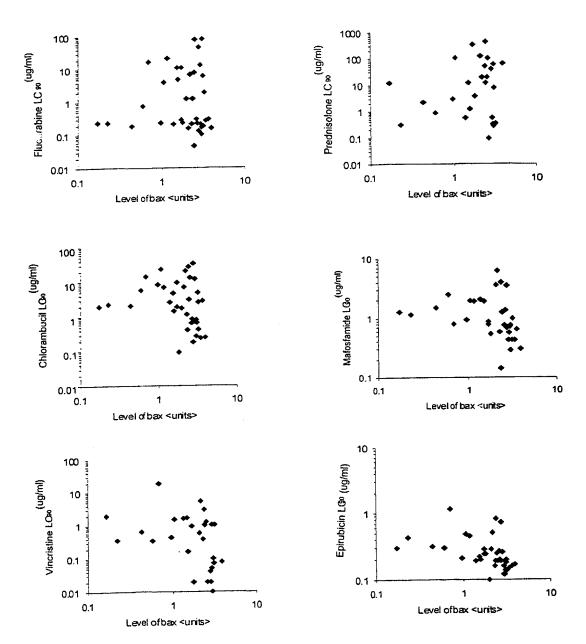
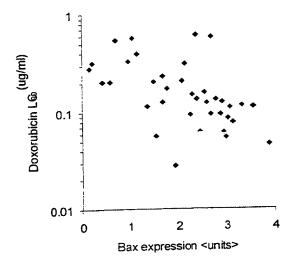


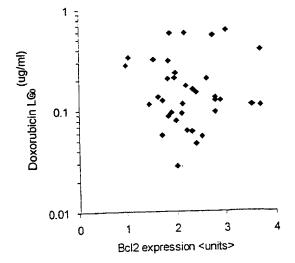
Abb. 1

The second secon

W.

. W.S.B.





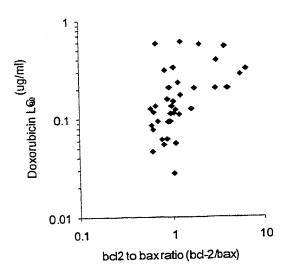
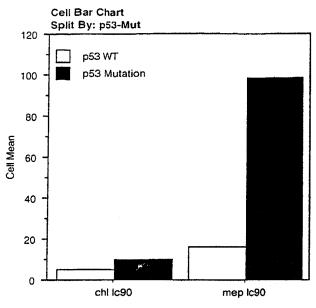
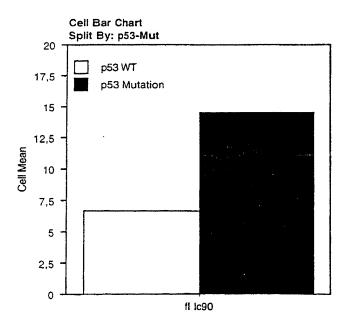


Abb.2

A. Effekt der p53-Mutation auf die Empfindlichkeit gegenüber Chlorambucil und Melphalan.



B. Effekt der p53-Mutation auf die Empfindlichkeit gegenüber Fludarabin.



A66.3

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum Internationales Büro





(43) Internationales Veröffentlichungsdate-23. November 2000 (23.11.2000)

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer WO 00/70085 A3

(51) Internationale Patentklassifikation7:

C12Q 1/68 PCT/DE00/01444

(21) Internationales Aktenzeichen:

(22) Internationales Anmeldedatum:

10. Mai 2000 (10.05.2000)

(25) Einreichungssprache:

. 4

Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache:

Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:

199 22 052.2

14. Mai 1999 (14.05.1999)

(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von US): THERAGEN MOLEKULARMEDIZINIS-CHE INFORMATIONSSYSTEME AG [DE/DE]; Robert-Rössle-Str. 10, D-13125 Berlin (DE).

(72) Erfinder; und

- (75) Erfinder/Anmelder (nur für US): DANIEL, Peter [DE/DE]; Treiberpfad 14, D-13469 Berlin (DE). HILLE-BRAND, Timo [DE/DE]; Bansiner Str. 60, D-12619 Berlin (DE). DÖRKEN, Bernd [DE/DE]; Lyckallee 47, D-14055 Berlin (DE). BENDZKO, Peter [DE/DE]; Ifflandstr. 32, D-12623 Berlin (DE).
- (74) Anwalt: BAUMBACH, Fritz; Robert-Rössle-Str. 10, D-13125 Berlin (DE).

(81) Bestimmungsstaaten (national): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CR, CU, CZ, DK, DM, DZ, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, L'1, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW.

(84) Bestimmungsstaaten (regional): ARIPO-Patent (GH, GM, KE, LS, MW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT. SE), OAPI-Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Veröffentlicht:

mit internationalem Recherchenbericht

(88) Veröffentlichungsdatum des internationalen Recherchenberichts:

9. August 2001

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes, und der anderen Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der PCT-Gazette verwiesen.

(54) Title: METHOD FOR DETECTING THE EFFECT OF DIFFERENT CHEMOTHERAPEUTIC AGENTS AND/OR RADI-ATION THERAPY IN MALIGNANT DISEASES

(54) Bezeichnung: VERFAHREN ZUM NACHWEIS DER WIRKUNG VON UNTERSCHIEDLICHEN CHEMOTHERAPEU-TIKA UND/ODER EINER STRAHLENTHERAPIE BEI MALIGNEN ERKRANKUNGEN

(57) Abstract: The invention relates to a method for detecting the effect of different chemotherapeutic agents and/or radiation therapy in malignant diseases, wherein the expression profile of tumor and/or cell growth and/or apolytical associated genes and/or individual differences (mutations) in gene sequences are determined. Changes associated with chemotherapeutic agents and/or radiation therapy are identified, represented and diagnostically evaluated. The invention further relates to a method for selecting more effective therapeutic agents for the therapy of malignant diseases. The status of cell cycle genes and/or apoptosis-associated target genes or gene products thereof in body fluids, cells and/or organs is determined and diagnostically evaluated to determine their effect on corresponding therapeutic agents. In a preferred embodiment, Bax and p53 expressions or mutations are investigated and the findings therefrom are used for deciding individual-specific therapy in leukemia and other malignant diseases.

(57) Zusammenfassung: Die Erfindung betrifft ein Verfahren zum Nachweis der Wirkung von unterschiedlichen Chemotherapeutika und/oder einer Strahlentherapie bei malignen Erkrankungen, wobei die Expressionsprofile von Tumor- und/oder Zellwachstum- und/oder Apoptose-assoziierten Genen und/oder die individuellen Unterschiede (Mutationen) in den Gen-Sequenzen bestimmt werden. Veränderungen im Zusammenhang mit Chemotherapeutika und/oder Strahlentherapie werden identifiziert, dargestellt und diagnostisch bewertet. Weiterhin betrifft die Erfindung ein Verfahren zur Auswahl wirkungsvoller therapeutischer Mittel zur Therapie maligner Erkrankungen. Es wird der Status von Zellzyklusgenen und/oder von Apoptose-assoziierten Targetgenen bzw. von deren Genprodukten in Körperflüssigkeiten, Zellen und/oder Organen bestimmt und hinsichtlich ihrer Wirkung auf entsprechende therapeutische Mittel diagnostisch ausgewertet. In einer bevorzugten Ausführungsform werden Bax- und p53-Expression bzw. Mutationen untersucht und daraus abgeleitet Aussagen zur individualspezifischen Therapie-Entscheidung bei Leukämien und anderen malignen Erkrankungen bereitgestellt.

Inte ional Application No PCT/DE 00/01444

A. CLASSI IPC 7	FICATION OF SUBJECT MATTER C12Q1/68		
	o International Patent Classification (IPC) or to both national cla	ssification and IPC	
	SEARCHED ocumentation searched (classification system followed by class	:Eastion cumbala)	
IPC 7	C12Q	ancanon symbols)	
	tion searched other than minimum documentation to the extent		
	lata base consulted during the international search (name of da ternal, PAJ, WPI Data, BIOSIS, EM	•	2)
	ENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category °	Citation of document, with indication, where appropriate, of the	ne relevant passages	Relevant to claim No.
X	STURM ISRID ET AL: "Analysis p53/BAX pathway in colorectal BAX is a negative prognostic f patients with resected liver m JOURNAL OF CLINICAL ONCOLOGY, vol. 17, no. 5, May 1999 (1999 1364-1374, XP000982432 ISSN: 0732-183X page 1364 page 1371 -page 1372	cancer: Low actor in etastases."	1-6, 10-16
	her documents are listed in the continuation of box C.	Y Patent family members are listed	ம் விiex.
"A" docume consider a filing of the citation of citation of the citation of ci	ent defining the general state of the art which is not fered to be of particular relevance document but published on or after the international state ent which may throw doubts on priority claim(s) or is cited to establish the publication date of another nor other special reason (as specified) ent referring to an oral disclosure, use, exhibition or means ent published prior to the international filing date but than the priority date claimed	 'T' later document published after the interest or priority date and not in conflict with cited to understand the principle or the invention 'X' document of particular relevance; the cannot be considered novel or cannot involve an inventive step when the document of particular relevance; the cannot be considered to involve an involvement is combined with one or moments, such combination being obviou in the art. '&' document member of the same patent 	the application but soory underlying the latined invention be considered to cument is taken alone latined invention rentive step when the re other such docurst to a person skilled
Date of the	actual completion of the international search	Date of mailing of the international sea	rch report
2	1 February 2001	06/03/2001	
	mailing address of the ISA European Patent Office, P.B. 5818 Patentiaan 2 NL - 2280 HV Hijswill, Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016	Reuter, U	

Inta ional Application No PCT/DE 00/01444

	AND A DOCUMENTS CONSIDERED TO BE SELEVANT	
Category °	DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	REED JOHN C ET AL: "BCL-2 Family proteins: Regulators of cell death involved in the pathogenesis of cancer and resistance to therapy." JOURNAL OF CELLULAR BIOCHEMISTRY, vol. 60, no. 1, 1996, pages 23-32, XP002161051 ISSN: 0730-2312 page 23-25 page 27-28	1-6,9-16
X	LOWE SCOTT W ET AL: "P53 status and the efficacy of cancer therapy in vivo." SCIENCE (WASHINGTON D C), vol. 266, no. 5186, 1994, pages 807-810, XP002161052 ISSN: 0036-8075 the whole document	1-6,9-16
X	MCCURRACH MILA E ET AL: "Bax-deficiency promotes drug resistance and oncogenic transformation by attenuating p53-dependent apoptosis." PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE UNITED STATES, vol. 94, no. 6, 1997, pages 2345-2349, XP002161053 1997 ISSN: 0027-8424 the whole document	1-6, 10-16
X	FINDLFY HARRY W ET AL: "Expression and regulation of Bcl-2, Bcl-xl, and Bax correlate with p53 status and sensitivity to apoptosis in childhood acute lymphoblastic leukemia." BLOOD, vol. 89, no. 8, 1997, pages 2986-2993, XP002161054 ISSN: 9006-4971 page 2986 -page 2988; table 1	1-6,9-16
X	KRAJEWSKI STANISLAW ET AL: "Reduced expression of proapoptotic gene BAX is associated with poor response rates to combination chemotherapy and shorter survival in women with metastatic breast adenocarcinoma." CANCER RESEARCH, vol. 55, no. 19, 1995, pages 4471-4478, XP002161055 ISSN: 0008-5472 the whole document	1-6,9-16
	-/	

2

1

18

.....

Inte ional Application No
PCT/DE 00/01444

ategory * Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Dolouget to claim At-
	Relevant to claim No.
WO 98 53103 A (BIBILASHVILLI ROBERT; CHENCHIK ALEX (US); JOKHADZE GEORGE (US); CL) 26 November 1998 (1998-11-26) page 14 page 52 page 77 page 103 page 131 page 149, line 25 -page 150, line 2; tables 1,3,6,9	1,11
DATABASE BIOSIS 'Online! BIOSCIENCES INFORMATION SERVICE, PHILADELPHIA, PA, US; August 1998 (1998-08) TAI YU-TZU ET AL: "BAX protein expression and clinical outcome in epithelial ovarian cancer." Database accession no. PREV199800406324 XP002161066 abstract & JOURNAL OF CLINICAL ONCOLOGY, vol. 16, no. 8, August 1998 (1998-08), pages 2583-2590, ISSN: 0732-183X	1-6, 10-16
MEIJERINK JULES P P ET AL: "Hematopoietic malignancies demonstrate loss-of-function mutations of BAX." BLOOD, vol. 91, no. 8, 15 April 1998 (1998-04-15), pages 2991-2997, XP002161056 ISSN: 0006-4971 the whole document	1-16

1

٠,٠,٠

cional Application No

	Information on patent family members		
Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 9853103 A	26-11-1998	US 5994076 A AU 7593398 A EP 0988398 A US 6077673 A	30-11-1999 11-12-1998 29-03-2000 20-06-2000
الله الله الله الله الله الله الله الله	rin, ann ann den had 1600 ann aint deilt film Alle Alle ann ann ann ann ann ann ann	ng ang min day ang ang ati dili bili bagain ang ang ang ang ang ang ang ang ang an	100 TO

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Inte Jonales Aktenzeichen PCT/DE 00/01444

A. KL	ASSIFIZIERUNG DES	ANMELDUNGSGEGENSTANDES
TPK	7 (1201/6	Q .

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole) $IPK \ 7 \ C12Q$

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

EPO-Internal, PAJ, WPI Data, BIOSIS, EMBASE, CHEM ABS Data

Kategorie°	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	STURM ISRID ET AL: "Analysis of the p53/BAX pathway in colorectal cancer: Low BAX is a negative prognostic factor in patients with resected liver metastases." JOURNAL OF CLINICAL ONCOLOGY, Bd. 17, Nr. 5, Mai 1999 (1999-05), Seiten 1364-1374, XP000982432 ISSN: 0732-183X Seite 1364 Seite 1371 -Seite 1372	1-6, 10-16

		X Siehe Anhang Patentfamilie
	Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen A' Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist. E' ätteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmededatum veröffentlicht worden ist. L' Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung beiegt werder soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt) O' Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht P' Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem bleanspruchten Prioritätsdatum veröftentlicht worden ist	 *T* Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondem nur zum Verständnis des der Effindung zugrundellegenden Prinzips oder der ihr zugrundellegenden Theorie angegeben ist *X* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung, die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden *Y* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung, die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategone in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann nahellegend ist *&* Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist
	Oatum des Abschlusses der internationalen Recherche 21. Februar 2001	Absendedatum des internationalen Recherchenberichts 06/03/2001
F	Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL – 2280 HV Rijswijk	Bevollmächtigter Bediensteter
	Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016	Reuter, U

1.5

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Intc. ionales Aktenzeichen
PCT/DE 00/01444

ategorie*	ung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht komme	enden Teile Betr. Anspruch Nr.
(REED JOHN C ET AL: "BCL-2 Family proteins: Regulators of cell death involved in the pathogenesis of cancer and resistance to therapy." JOURNAL OF CELLULAR BIOCHEMISTRY, Bd. 60, Nr. 1, 1996, Seiten 23-32,	1-6,9-16
	XP002161051 ISSN: 0730-2312 Seite 23-25 Seite 27-28	
X	LOWE SCOTT W ET AL: "P53 status and the efficacy of cancer therapy in vivo." SCIENCE (WASHINGTON D C), Bd. 266, Nr. 5186, 1994, Seiten 807-810, XP002161052 ISSN: 0036-8075 das ganze Dokument	1-6,9-16
X	MCCURRACH MILA E ET AL: "Bax-deficiency promotes drug resistance and oncogenic transformation by attenuating p53-dependent apoptosis." PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE UNITED STATES, Bd. 94, Nr. 6, 1997, Seiten 2345-2349, XP002161053 1997 ISSN: 0027-8424 das ganze Dokument	1-6, 10-16
	FINDLEY HARRY W ET AL: "Expression and regulation of Bcl-2, Bcl-xl, and Bax correlate with p53 status and sensitivity to apoptosis in childhood acute lymphoblastic leukemia." BLOOD, Bd. 89, Nr. 8, 1997, Seiten 2986-2993, XP002161054 ISSN: 0006-4971 Seite 2986 -Seite 2988; Tabelle 1	1-5,9-16
X	KRAJEWSKI STANISLAW ET AL: "Reduced expression of proapoptotic gene BAX is associated with poor response rates to combination chemotherapy and shorter survival in women with metastatic breast adenocarcinoma." CANCER RESEARCH, Bd. 55, Nr. 19, 1995, Seiten 4471-4478, XP002161055 ISSN: 0008-5472 das ganze Dokument	1-6,9-16

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Int. ionales Aktenzeichen
PCT/DE 00/01444

	Rung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
Kategorie°	Dezeronnung der Veronenmonung, soweiterfordernich unter Angabe der in Betracht kommenden Telle	oea, Anspidul Nr.
х	WO 98 53103 A (BIBILASHVILLI ROBERT; CHENCHIK ALEX (US); JOKHADZE GEORGE (US); CL) 26. November 1998 (1998-11-26) Seite 14 Seite 52 Seite 77 Seite 103 Seite 131 Seite 149, Zeile 25 -Seite 150, Zeile 2; Tabellen 1,3,6,9	1,11
x	DATABASE BIOSIS 'Online! BIOSCIENCES INFORMATION SERVICE, PHILADELPHIA, PA, US; August 1998 (1998-08) TAI YU-TZU ET AL: "BAX protein expression and clinical outcome in epithelial ovarian cancer." Database accession no. PREV199800406324 XP002161066 Zusammenfassung & JOURNAL OF CLINICAL ONCOLOGY, Bd. 16, Nr. 8, August 1998 (1998-08), Seiten 2583-2590, ISSN: 0732-183X	1-6, 10-16
A	MEIJERINK JULES P P ET AL: "Hematopoietic malignancies demonstrate loss-of-function mutations of BAX." BLOOD, Bd. 91, Nr. 8, 15. April 1998 (1998-04-15), Seiten 2991-2997, XP002161056 ISSN: 0006-4971 das ganze Dokument	1-16

...

INTERNATIONALER

CHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Inte onales Aktenzeichen
PCT/DE 00/01444

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokum		Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie		Datum der Veröffentlichung	
WO 9853103	A	26-11-1998	US AU EP US	5994076 A 7593398 A 0988398 A 6077673 A	30-11-1999 11-12-1998 29-03-2000 20-06-2000	
الله الله الله الله الله الله الله الله			شن سے خت شے ہیں سے تنے ہے			





PATENT COOPERATION THATY

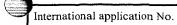
PCT

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

(PCT Article 36 and Rule 70)

Applicant's or agent's file reference PCT/Theragen 01	FOR FURTHER ACTION	SeeNotificationofTrans Examination Report (Fo	mittalofInternational Preliminary orm PCT/IPEA/416)		
International application No. PCT/DE00/01444	International filing date (day/n 10 May 2000 (10.0		ate (day/month/year) May 1999 (14.05.99)		
International Patent Classification (IPC) or n C12Q 1/68	ational classification and IPC				
Applicant THERAGEN MOLEK	CULARMEDIZINISCHE	NFORMATIONSS	YSTEME AG		
This international preliminary exam and is transmitted to the applicant action.		by this International Pre	liminary Examining Authority		
2. This REPORT consists of a total of	5 sheets, including	g this cover sheet.			
amended and are the basis fo		ing rectifications made	and/or drawings which have been before this Authority (see Rule		
These annexes consist of a to	otal of sheets.				
3. This report contains indications rela	ting to the following items:				
I Basis of the report					
II Priority	A.				
	of opinion with regard to novelty	, inventive step and indu	strial applicability		
IV Lack of unity of inv	rention				
Reasoned statement	under Article 35(2) with regard ations supporting such statemen	to novelty, inventive step	o or industrial applicability;		
VI Certain documents	cited				
VII Certain defects in the	ne international application		e e		
VIII Certain observations on the international application					
Date of submission of the demand	Date o	completion of this repor	t		
08 December 2000 (08	.12.00)	01 October 20	001 (01.10.2001)		
Name and mailing address of the IPEA/EP	Author	zed officer			
Facsimile No.	Teleph	one No.			





PCT/DE00/01444

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

I. Ba	ısis (of the report					
1. With regard to the elements of the international application:*							
		the international application as originally filed					
\triangleright		the description:					
		pages 1-9	, as originally filed				
		pages	, filed with the demand				
		pages, filed	with the letter of				
Б	7	the claims:					
K			, as originally filed				
			s amended (together with any statement under Article 19				
			, filed with the demand				
		pages, filed					
K	7	the drawings:					
Z	7	pages 1/3-3/3	as originally filed				
			, filed with the demand				
		pages, filed					
_	- п.		with the letter of				
L	tł	ne sequence listing part of the description:					
		pages					
		pages					
		pages, filed	with the letter of				
th	ie in	regard to the language, all the elements marked above were available ternational application was filed, unless otherwise indicated under this elements were available or furnished to this Authority in the following the language of a translation furnished for the purposes of internation the language of publication of the international application (under Ruthe language of the translation furnished for the purposes of international application (under Ruthe language).	s item. log language which is: nal search (under Rule 23.1(b)). lule 48.3(b)).				
3. V	Vith relin	or 55.3). regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosininary examination was carried out on the basis of the sequence listing	sed in the international application, the international				
		contained in the international application in written form.					
Ī		filed together with the international application in computer readable	form.				
Ĺ		furnished subsequently to this Authority in written form.					
		furnished subsequently to this Authority in computer readable form.					
		The statement that the subsequently furnished written sequenc international application as filed has been furnished.	e listing does not go beyond the disclosure in the				
		The statement that the information recorded in computer readabl been furnished.	e form is identical to the written sequence listing has				
4. [The amendments have resulted in the cancellation of:					
		the description, pages					
		the claims, Nos.					
		the drawings, sheets/fig					
5, [This report has been established as if (some of) the amendments had beyond the disclosure as filed, as indicated in the Supplemental Box (
in ar	this	cement sheets which have been furnished to the receiving Office in re s report as "originally filed" and are not annexed to this repor 9.17).	t since they do not contain amendments (Rule 70.16				
** Ai	ny re	eplacement sheet containing such amendments must be referred to un	der item 1 and annexed to this report.				

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.
PCT/DE 00/01444

V. Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

Statement			
Novelty (N)	Claims	7-9	YES
	Claims	1-6, 10-16	NO
Inventive step (IS)	Claims		YES
	Claims	1-16	NO
Industrial applicability (IA)	Claims	1-16	YES
	Claims		NO

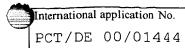
2. Citations and explanations

1). Preamble

It is known from the documents cited in the search report that oncogenesis, tumour progression and resistance to treatment can be determined by cell cycle- and apoptosis-regulating factors, that, by determining the expression profile thereof, genes associated with said tumour or cell growth can be used as prognostic markers, that the patient's response to chemotherapy and radiation therapy can be correlated and that such influences can be used for the purposes of diagnostic assessment as per the present claims.

2.1. Claim 1 is very broad, owing to the different options; the subject of the claimed method is genetic analysis for determining changes in connection with chemotherapy and/or radiation therapy and the "diagnostic assessment" of said changes. This procedure ("diagnostic assessment") was already described in all subsequently discussed documents (see D1-D6, in point 2.3.). Consequently, the subject matter of Claims 1-6 and 10 appears to lack novelty.

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT



- 2.2. According to Claim 11, the results of the genetic analysis are used to determine resistance to treatment and to select treatment agents. Such a use for this combination (resistance + selection) is specified or alluded to, for example, in documents D1, D2, D4 and D6 (see point 2.3. below). Consequently, the subject matter of Claims 11-16 appears to lack novelty and inventive step.
- 2.3. Document D1: Sturm et al. (Bax as prognostic marker in connection with chemotherapy, e.g. page 1371; "combination" as per 2.2. above; see bottom righthand side of page 1364), **D2**: Reed et al. (bcl-2 as prognostic marker in connection with chemotherapy and radiation therapy and as target, the selection of effective drugs for treating malignant diseases; "combination" as per point 2.2. above; see top right-hand side of page 30), D3: Lowe et al. (p53 mutations create resistance to chemotherapy and radiation therapy), **D4:** McCurrach et al. (influence of Bax status on the apoptosis regulation of p53 and the consideration thereof in selecting a treatment; "combination" as per point 2.2. above; see page 2348, under text for Figure 3, right-hand side), D5: Findley et al. (bc12, Bax and p53 as markers for evaluating radiation therapy); D6: Krajewsky et al. (low Bax expression level shows poor effect of chemotherapy; "combination" as per point 2.2. above; see page 4477, last part of the discussion).

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

VII.	Certain	defects	in	the	international	ap	plication
------	---------	---------	----	-----	---------------	----	-----------

The following defects in the form or contents of the international application have been noted:

Contrary to PCT Rule 5.1(a)(ii), the description does not cite documents D1-D6, nor the relevant prior art disclosed therein.

VIII. Certain observations on the international application

The following observations on the clarity of the claims, description, and drawings or on the question whether the claims are fully supported by the description, are made:

The multiple use of "and/or" in Claim 1 results in a number of possibilities. Said claim therefore appears to contravene the requirements for clarity, concision and support from the description (PCT Article 6).



PCT

NOTIFICATION OF ELECTION

(PCT Rule 61.2)

From the INTERNATIONAL BUREAU

To:

Commissioner
US Department of Commerce
United States Patent and Trademark
Office, PCT
2011 South Clark Place Room
CP2/5C24
Arlington, VA 22202
ETATS-LINIS D'AMERIQUE

Date of mailing (day/month/year)

17 January 2001 (17.01.01)

Arlington, VA 22202

ETATS-UNIS D'AMERIQUE

in its capacity as elected Office

International application No.
PCT/DE00/01444
PCT/Theragen 01
International filing date (day/month/year)
10 May 2000 (10.05.00)
Priority date (day/month/year)
14 May 1999 (14.05.99)

Applicant
DANIEL, Peter et al

X in the demand	d filed with the International Preliminary Examining Authority on:	
	08 December 2000 (08.12.00)	
in a notice effe	ecting later election filed with the International Bureau on:	
. The election X	was	
	was not	
made beföre the exp Rule 32.2(b).	piration of 19 months from the priority date or, where Rule 32 applies, within the time limi	it under

The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland

Authorized officer

Diana Nissen

Telephone No.: (41-22) 338.83.38

Facsimile No.: (41-22) 740.14.35

PCT

WIPO

VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM REC'D 0 4 OCT 2001 **GEBIET DES PATENTWESENS**

PCT

INTERNATIONALER VORLÄUFIGER PRÜFUNGSBERICHT

(Artikel 36 und Regel 70 PCT)

Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts PCT/Theragen 01			WEITERES VORGEHEN	siehe Mitteilung über die Übersendung des internationalen vorläufigen Prüfungsberichts (Formblatt PCT/IPEA/416)
				Totaliges Fluidings School (Form Date Form E7410)
		ktenzeichen	Internationales Anmeldedatum(,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,
PCT/DE			10/05/2000	14/05/1999
Internation C12Q1/6		tentklassifikation (IPK) oder r	nationale Klassifikation und IPK	
	SEN I	MOLEKULARMEDIZIN	ISCHE INFORMAT et al.	
			ungsbericht wurde von der mi elder gemäß Artike! 36 übermi	it der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten ittelt.
2. Diese	r BEI	RICHT umfaßt insgesamt	5 Blätter einschließlich diese	s Deckblatts.
u B	nd/od ehörd	ler Zeichnungen, die geär	ndert wurden und diesem Beri htigungen (siehe Regel 70.16	es sich um Blätter mit Beschreibungen, Ansprüchen icht zugrunde liegen, und/oder Blätter mit vor dieser 6 und Abschnitt 607 der Verwaltungsrichtlinien zum PCT).
3. Diese	r Beri ⊠	icht enthält Angaben zu fo Grundlage des Berichts	olgenden Punkten:	
11		Priorität		
111		Keine Erstellung eines G	Gutachtens über Neuheit, erfin	nderische Tätigkeit und gewerbliche Anwendbarkeit
IV		Mangelnde Einheitlichke		·
V	☒	gewerblichen Anwendba	ırkeit; Unterlagen und Erkläruı	h der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der ngen zur Stützung dieser Feststellung
VI		Bestimmte angeführte U		
VII	⊠ NZ	· ·	nternationalen Anmeldung	
VIII	⊠	Bestimmte Bemerkunge	n zur internationalen Anmeldu	ung
Datum der E	Einreic	hung des Antrags	Datum	der Fertigstellung dieses Berichts
08/12/200	00		01.10.2	2001
	uftrag	schrift der mit der internation ten Behörde:	alen vorläufigen Bevollr	mächtigter Bediensteter
(III)		päisches Patentamt 298 München	Cuon	det P

Cuendet, P

Tel. Nr. +49 89 2399 8690

Fax: +49 89 2399 - 4465

Tel. +49 89 2399 - 0 Tx: 523656 epmu d





INTERNATIONALER VORLÄUFIGER **PRÜFUNGSBERICHT**

Internationales Aktenzeichen PCT/DE00/01444

l. Grund	lage	des	Beri	chts
----------	------	-----	------	------

•••	iii di							
1.	 Hinsichtlich der Bestandteile der internationalen Anmeldung (Ersatzblätter, die dem Anmeldeamt auf eine Aufforderung nach Artikel 14 hin vorgelegt wurden, gelten im Rahmen dieses Berichts als "ursprünglich eingereicht" und sind ihm nicht beigefügt, weil sie keine Änderungen enthalten (Regeln 70.16 und 70.17)): Beschreibung, Seiten: 							
	1-9	9	ursprüngliche Fassung					
	Pa	tentansprüche, Nr.	. :					
	1-1	16	ursprüngliche Fassung					
Zeichnungen, Blätter:								
	1/3	3-3/3	ursprüngliche Fassung					
2.	die	Hinsichtlich der Sprache : Alle vorstehend genannten Bestandteile standen der Behörde in der Sprache, in der die internationale Anmeldung eingereicht worden ist, zur Verfügung oder wurden in dieser eingereicht, sofern unter diesem Punkt nichts anderes angegeben ist.						
		Bestandteile stand gereicht; dabei hand	en der Behörde in der Sprache: zur Verfügung bzw. wurden in dieser Sprache delt es sich um					
		die Sprache der Ü Regel 23.1(b)).	bersetzung, die für die Zwecke der internationalen Recherche eingereicht worden ist (nach					
		die Veröffentlichur	ngssprache der internationalen Anmeldung (nach Regel 48.3(b)).					
		die Sprache der Ü ist (nach Regel 55	bersetzung, die für die Zwecke der internationalen vorläufigen Prüfung eingereicht worden .2 und/oder 55.3).					
3.	Hin inte	sichtlich der in der i ernationale vorläufig	nternationalen Anmeldung offenbarten Nucleotid- und/oder Aminosäuresequenz ist die e Prüfung auf der Grundlage des Sequenzprotokolls durchgeführt worden, das:					
		in der international	en Anmeldung in schriftlicher Form enthalten ist.					
		zusammen mit der	internationalen Anmeldung in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.					
			achträglich in schriftlicher Form eingereicht worden ist.					
		bei der Behörde na	achträglich in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.					
		Die Erklärung, daß Offenbarungsgeha	das nachträglich eingereichte schriftliche Sequenzprotokoll nicht über den It der internationalen Anmeldung im Anmeldezeitpunkt hinausgeht, wurde vorgelegt.					
		Die Erklärung, daß	die in computerlesbarer Form erfassten Informationen dem schriftlichen entsprechen, wurde vorgelegt.					
4.	Auf	grund der Änderung	gen sind folgende Unterlagen fortgefallen:					





INTERNATIONALER VORLÄUFIGER **PRÜFUNGSBERICHT**

Internationales Aktenzeichen PCT/DE00/01444

		Beschreibung,	Seiten:
		Ansprüche,	Nr.:
		Zeichnungen,	Blatt:
5.	angegebenen Gründen nach Auffassung der Behörde über den eingereichten Fassung hinausgehen (Regel 70.2(c)).		ne Berücksichtigung (von einigen) der Änderungen erstellt worden, da diese aus den en nach Auffassung der Behörde über den Offenbarungsgehalt in der ursprünglich ng hinausgehen (Regel 70.2(c)). e solche Änderungen enthalten, ist unter Punkt 1 hinzuweisen;sie sind diesem Bericht

- 6. Etwaige zusätzliche Bemerkungen:
- V. Begründete Feststellung nach Artikel 35(2) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung
- 1. Feststellung

Neuheit (N)

Ansprüche Ja:

7-9

Nein: Ansprüche 1-6,10-16

Erfinderische Tätigkeit (ET)

Ansprüche Ja:

Nein: Ansprüche 1-16

Gewerbliche Anwendbarkeit (GA)

Ja: Ansprüche

1-16 Nein: Ansprüche

2. Unterlagen und Erklärungen siehe Beiblatt

VII. Bestimmte Mängel der internationalen Anmeldung

Es wurde festgestellt, daß die internationale Anmeldung nach Form oder Inhalt folgende Mängel aufweist: siehe Beiblatt

VIII. Bestimmte Bemerkungen zur internationalen Anmeldung

Zur Klarheit der Patentansprüche, der Beschreibung und der Zeichnungen oder zu der Frage, ob die Ansprüche in vollem Umfang durch die Beschreibung gestützt werden, ist folgendes zu bemerken: siehe Beiblatt



Internationales Aktenzeichen PCT/DE00/01444

1). Präambel

Gemäss der im Recherchenbericht zitierten Dokumente war bekannt, dass Tumorentstehung, Tumorprogression und Therapieresistenz durch Zellzyklusund Apoptose-regulierende Faktoren bestimmt werden und man durch Bestimmung ihres Expressionsprofils diese Tumor- bzw. Zellwachstumassoziierten Gene als prognostische Marker nutzen und das Ansprechen des Patienten auf Chemotherapeutika und Strahlenthgerapie korrelieren kann und solche Zusammenhänge zur diagnosischen Bewertung gemäss der vorliegenden Ansprüche verwendet werden können.

2). Punkt V.2.

- 2.1. Anspruch 1 ist mit seinen verschiedenen Optionen sehr breit; Gegenstand des beanspruchten Verfahrens ist die genetische Analyse zur Ermittlung von Veränderungen im Zusammenhang mit Chemotherapie und/oder Strahlentherapie und die "diagnostische Bewertung" dieser Veränderungen. Dieses Vorgehen (mit abschliessender "diagnostische Bewertung") ist in allen anschliessend diskutierten Dokumenten bereits beschrieben worden (s. D1-D6, in Punkt 2.3.). Demnach scheint der Gegenstand der Ansprüche1-6 und 10 nicht neu zu sein.
- 2.2. Gemäss Anspruch 11 werden die Resultate der genetischen Analyse zur Ermittlung von Resistenz gegen Therapie und zur Auswahl therapeutischer Mittel verwendet. Die Verwendung für diese Kombination (Resistenz + Auswahl) ist z.B in den Dokumenten D1, D2, D4 und D6 angegeben/angedeutet (s. unten in Punkt 2.3.). Demnach scheint der Gegenstand der Ansprüche 11-16 nicht neu zu sein / nicht auf einer erfinderischen Tätigkeit beruhen.
- 2.3. Dokument D1: Sturm et al. (Bax als prognostischer Marker im Zusammenhang mit Chemotherapeutika, z.B. S.1371; "Kombination" gemäss Punkt 2.2. oben, s. S.1364 unten rechts), D2: Reed et al. (bcl-2 als prognostischer Marker im Zusammenhang mit Chemotherapeutika und Strahlentherapie und als Ziel die Auswahl von wirkungsvollen Medikamenten zur Therapie maligner Erkrankungen; "Kombination" gemäss Punkt 2.2. oben, s. S.30 oben rechts)), D3: Lowe et al. (p53 Mutationen bewirken Resistenz gegen Chemotherapeutika und Strahlentherapie, D4: McCurrach et al. (Einfluss des Bax-Status auf

INTERNATIONALER VORLÄUFIGER PRÜFUNGSBERICHT - BEIBLATT

Internationales Aktenzeichen PCT/DE00/01444

Apoptoseregulation von p53 und diesbezügliche Berücksitigung bei Selektion eines Therapeutikums; "Kombination" gemäss Punkt 2.2. oben, s. S.2348 unter Text Fig.3, rechts), D5: Findley et al. (bc12, Bax und p53 als Marker für die Bewertung einer Strahlentherapie); D6: Krajewsky et al. (niedriges Bax-Expressionsniveau zeigt schlechte Wirkung einer Chemotherapie an; "Kombination" gemäss Punkt 2.2. oben, s. S.4477, letzer Abschnitt von Diskussion).

3). Punkt VII.

Im Widerspruch zu den Erfordernissen der Regel 5.1 a) ii) PCT werden in der Beschreibung weder der in den Dokumenten D1-D6 offenbarte einschlägige Stand der Technik noch diese Dokumente angegeben.

Punkt VIII. 4).

Durch die mehrfache Verwendung des Ausdrucks "und/oder" in Anspruch 1 wird eine Vielzahl von Möglichkeiten induziert. Somit scheint dieser Anspruch gegen Erfordernisse wie Klarheit, Knappheit und Stützung durch die Beschreibung zu verstossen, Art. 6 PCT.

NOOUT

VERTF ÜBER DIE INTERNATIONALE AMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS

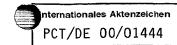
PCT

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

(Artikel 18 sowie Regeln 43 und 44 PCT)

Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts	weiteres siehe Mitteilung über die Übermittlung des internationalen Recherchenberichts (Formblatt PCT/ISA/220) sowie, soweit			
PCT/Theragen 01	VORGEHEN zutreffend, nachsteh	ender Punkt 5		
Internationales Aktenzeichen	Internationales Anmeldedatum	(Frühestes) Prioritätsdatum (Tag/Monat/Jahr)		
PCT/DE 00/01444	(Tag/Monat/Jahr) 10/05/2000	14/05/1999		
Anmelder				
MOLEKULARMEDIZINISCHE INFORMATIONSSYSTEME AG				
Dieser internationale Recherchenbericht wurde von der Internationalen Recherchenbehörde erstellt und wird dem Anmelder gemäß				
Artikel 18 übermittelt. Eine Kopie wird dem Internationalen Büro übermittelt.				
Dieser internationale Recherchenbericht umfa Narüber hinaus liegt ihm jev	aßt insgesamt <u>4</u> Blätter. weils eine Kopie der in diesem Bericht genannte	en Unterlagen zum Stand der Technik bei.		
Databet filliade legic filli jewelle elle Neple del il diesem befort genannen elleragen zum etalla del Teorinik bei.				
1. Grundlage des Berichts				
 a. Hinsichtlich der Sprache ist die internationale Recherche auf der Grundlage der internationalen Anmeldung in der Sprache durchgeführt worden, in der sie eingereicht wurde, sofern unter diesem Punkt nichts anderes angegeben ist. 				
Die internationale Recherche ist auf der Grundlage einer bei der Behörde eingereichten Übersetzung der internationalen				
Anmeldung (Regel 23.1 b)) durchgeführt worden.				
b. Hinsichtlich der in der internationalen Anmeldung offenbarten Nucleotid- und/oder Aminosäuresequenz ist die internationale Recherche auf der Grundlage des Sequenzprotokolls durchgeführt worden, das				
	Idung in Schriflicher Form enthalten ist.			
zusammen mit der internationalen Anmeldung in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.				
bei der Behörde nachträglich in schriftlicher Form eingereicht worden ist.				
bei der Behörde nachträglich in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.				
Die Erklärung, daß das nachträglich eingereichte schriftliche Sequenzprotokoll nicht über den Offenbarungsgehalt der internationalen Anmeldung im Anmeldezeitpunkt hinausgeht, wurde vorgelegt.				
Die Erklärung, daß die in computerlesbarer Form erfaßten Informationen dem schriftlichen Sequenzprotokoll entsprechen, wurde vorgelegt.				
2. Bestimmte Ansprüche haben sich als nicht recherchierbar erwiesen (siehe Feld!).				
3. MangeInde Einheitlichkeit der Erfindung (siehe Feld II).				
4. Hinsichtlich der Bezeichnung der Erfindung				
wird der vom Anmelder eingereichte Wortlaut genehmigt.				
Wurde der Wortlaut von der Behörde wie folgt festgesetzt:				
VERFAHREN ZUM NACHWEIS DER WIRKUNG VON UNTERSCHIEDLICHEN CHEMOTHERAPEUTIKA UND/ ODER EINER STRAHLENTHERAPIE BEI MALINGNEN ERKRANKUNGEN				
5. Hinsichtlich der Zusammenfassung				
I (A)	gereichte Wortlaut genehmigt. egel 38.2b) in der in Feld III angegebenen Fass	ung von der Behörde festgesetzt. Der		
Anmelder kann der Behörde Recherchenberichts eine S	e innerhalb eines Monats nach dem Datum der	Absendung dieses internationalen		
i	ist mit der Zusammenfassung zu veröffentliche	n: Abb. Nr		
wie vom Anmelder vorgesc		X keine der Abb.		
weil der Anmelder selbst ke	eine Abbildung vorgeschlagen hat.			
weil diese Abbildung die Er	findung besser kennzeichnet.			

INTERNATION RECHERCHENBERICHT



a. Klassifizierung des anmeldungsgegenstandes IPK 7 C12Q1/68

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole) IPK 7 C12Q

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

EPO-Internal, PAJ, WPI Data, BIOSIS, EMBASE, CHEM ABS Data

Kategorie°	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	STURM ISRID ET AL: "Analysis of the p53/BAX pathway in colorectal cancer: Low BAX is a negative prognostic factor in patients with resected liver metastases." JOURNAL OF CLINICAL ONCOLOGY, Bd. 17, Nr. 5, Mai 1999 (1999-05), Seiten 1364-1374, XP000982432 ISSN: 0732-183X Seite 1364 Seite 1371 -Seite 1372	1-6, 10-16

Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen	X Siehe Anhang Patentfamille
 Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen "A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist "E" älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist "L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt) "O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht "P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist 	 *T* Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist *X* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden *Y* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist *&* Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist
Datum des Abschlusses der Internationalen Recherche	Absendedatum des internationalen Recherchenberichts
21. Februar 2001	06/03/2001
Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL – 2280 HV Rijswijk Tel. (+31–70) 340–2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31–70) 340–3016	Bevollmächtigter Bediensteler Reuter, U
Formblatt PCT/ISA/210 (Blatt 2) (Juli 1992)	